

Title	The effect of fructose on fructose 2, 6-bisphosphate level and fructose 6-phosphate, 2-kinase activity in the perfused rat liver.
Author(s)	小川, 明孝
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38592
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について /a>を ご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名 お 小 川 あき 孝

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 1 1 0 5 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 6 年 2 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 The effect of fructose on fructose 2, 6-bisphosphate level and fructose 6-phosphate, 2-kinase activity in the perfused rat liver.
 (灌流ラット肝でのフルクトース2, 6-二リン酸レベル及びフルクトース6-リン酸、2-キナーゼ活性に及ぼすフルクトースの影響)

論 文 審 査 委 員 (主査)
 教 授 森 武 貞

(副査)
 教 授 岡 田 正 教 授 杉 本 侃

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

フルクトース (Frc) は術後の高血糖状態でも安全に投与できる糖質として広く臨床で用いられている。Frc による ATP レベルの低下の可能性も指摘されているが、灌流肝を用いた西らの研究で 2 mM 以下の Frc 濃度では肝 ATP レベルは低下しないことが明らかになっている。しかしグリコーゲン合成系及び解糖系の代謝と Frc 濃度との関係は不明である。

本研究ではグリコーゲン合成酵素活性、フルクトース2, 6-二リン酸 (F2, 6P₂) 濃度およびこのものの合成酵素であるフルクトース6-リン酸、2-キナーゼ (F6P2kinase) 活性などの変動を測定することにより Frc の肝糖代謝、特にグリコーゲン合成系と解糖系への作用を明らかにしようとした。

(方 法)

絶食後ネブタール麻酔した170-250gの雄SDラットを用いた。灌流液として Krebs-Henseleit 液を用いて単離肝灌流を行った。30分間の前灌流の後、種々の濃度の Frc 存在下でさらに30分間灌流し、肝を液体窒素温度で急速凍結した。ATP は HPLC 法、グリコーゲン酵素活性は西らの方法、F2, 6P₂ および F6P2kinase 活性はそれぞれ Cseke の方法と古谷らの方法で測定した。

(成 績)

グリコーゲン合成速度は灌流液中の Frc 濃度が 2 mM までは Frc 濃度の上昇にともない増加した。さらに Frc 濃度を上昇させると合成速度は低下した。この低下は ATP レベルの低下に起因することが示された。2 mM 以下の Frc 濃度では Frc 濃度と G6P レベル、G6P レベルと a 型グリコーゲン合成酵素活性の間にそれぞれよい相関性が認められた。

灌流液中の Frc 濃度の解糖系代謝速度への影響を調べるために解糖系調節の鍵酵素であるホスホフルクトキナーゼの活性化因子、F2, 6P₂ の変動を調べた。Frc なしで灌流した時、F2, 6P₂ レベルは 1.16 nmol/g であったが、0.5 mM Frc では 6.66 nmol/g にまで上昇した。しかし Frc 濃度をさらに上昇させると F2, 6P₂ レベルの増加量は次

第に減少し、5 mM Frc ではほとんど増加が認められなかった。従来より高濃度 Frc による F2, 6P₂ レベルの増加の阻害は ATP レベルの低下によることを示唆する報告がなされている。しかし ATP レベルは Frc 濃度が 2 mM までは全く低下せず、また 5 mM Frc でも 1.42 μ mol/g を示した。F6P2kinase の ATP に対する k_m は 0.5 mM であるので F2, 6P₂ レベルの高濃度 Frc による増加の抑制が ATP レベルの低下によっていることは否定された。もう一方の基質である F6P の濃度は灌流液中の Frc 濃度の上昇につれて増加し、0.5 mM Frc では 11.23 nmol/g であり、5 mM では 54.8 nmol/g であった。F6P2kinase は A キナーゼによる磷酸化により活性型から不活性型に転換される酵素であり、絶食ラット肝では不活性型で存在し、不活性型酵素の活性は F6P の増加に対してシグモイダルに上昇し、25 μ M F6P ではほとんど活性を示さない。従って、0.5 mM Frc による F2, 6P₂ レベルの上昇は F6P レベルの変動のみからは説明できなかった。

F6P2kinase の活性化の度合を F6P に対する k_m から調べたところ、絶食ラット肝では大部分が不活性型であった F6P2kinase は、Frc 灌流により F6P に対する k_m の低い活性型に転換していることが示された。この結果より低濃度 Frc による F2, 6P₂ レベルの上昇は F6P 濃度の上昇と F6P2kinase の不活性型から活性型への転換によっていることが示された。高濃度 Frc による F2, 6P₂ レベルの上昇の抑制は Frc 投与によって F1P レベルが大幅に上昇し、この F1P が F6P2kinase を拮抗的に阻害することによっていることが示された。

(総括)

2 mM 以下の Frc 濃度で灌流を行った時、グリコーゲン合成速度が上昇するのは G6P レベルの上昇によりグリコーゲン合成酵素が活性化されるためであること、2 mM 以上の Frc 濃度でグリコーゲン合成速度が減少するのは ATP レベルの低下によることが判明した。一方、低濃度の Frc による F2, 6P₂ レベルの上昇は F6P2kinase の活性型への転換と F6P レベルの上昇によっていること、高濃度の Frc で F2, 6P₂ レベルの上昇が起らないのは Frc 投与によって増加した F1P が F6P2kinase を阻害することによることが判明した。

ところで現在本邦で臨床的に用いられているグルコース、フルクトース、キシリトール (4:2:1) の糖質混合液投与時の Frc の血中濃度は、0.5 mM 前後と報告されている。この 0.5 mM 前後の Frc 濃度ではグリコーゲン合成速度の上昇と解糖系を促進する F2, 6P₂ の上昇がみられるので、肝グリコーゲンが枯渇しグルコースの利用障害が生じる手術術後に Frc を含む糖混合液を用いることは有意義であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、フルクトースがグリコーゲン合成系及び解糖系の代謝に及ぼす影響を検討したものである。その結果、現在臨床的に用いられている糖質混合液中のフルクトース濃度では従来いわれてきたような ATP レベルの低下はみられず、むしろフルクトースの投与によりグリコーゲン合成速度の上昇がみられ、フォスフォフルクトキナーゼの活性を促進するフルクトース 2, 6-二磷酸の上昇が起り、解糖系が促進することが示唆された。当研究は、フルクトースの糖質代謝への作用の特徴を明らかにしたことにその臨床的意義があり、学位に値すると思われる。